

自體骨髓間質幹細胞對犬椎間盤疾病臨床病例報告 (Case report : Autologous mesenchymal stem cells graft for Intervertebral disc disease)

陳怡銓¹、王義文¹、林昇全^{1,2}、許岩得²

高雄 登羣動物醫院¹ 屏東科技大學²

病歷

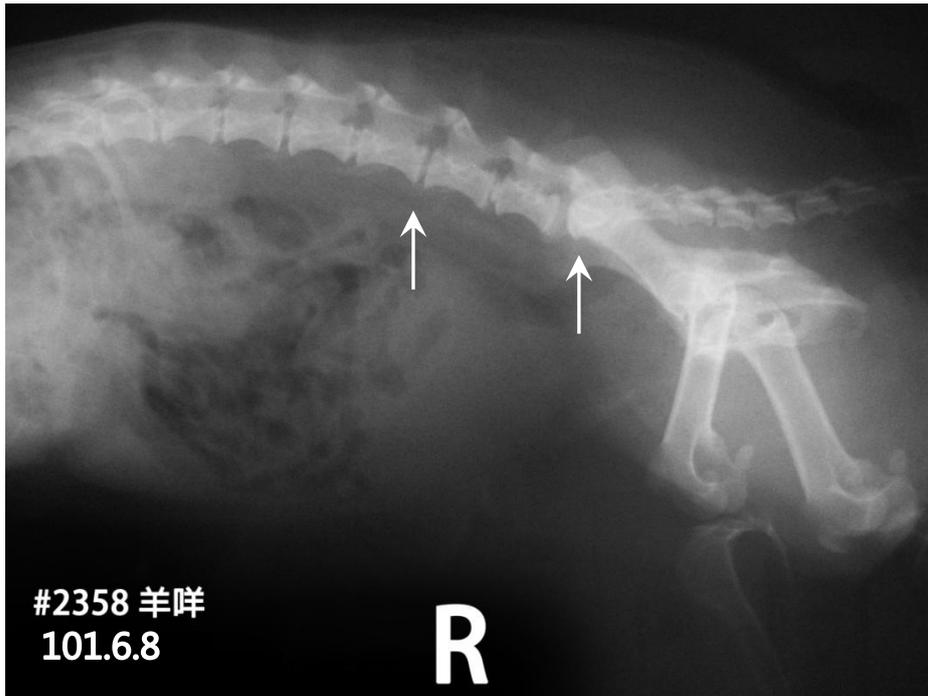
八歲齡雌性成年未結育之長毛臘腸，畜主主訴該病犬，在 101 年 6 月 7 日從機車上跳下後，就開始無排尿反應及雙側性的後肢癱瘓。病犬平常食慾精神正常，排便正常，排尿的次數及排尿量有減少，有完整的疫苗及心絲蟲預防紀錄，之前有心臟病的病史，並未有定期的服用心臟病藥。在 100 年 11 月時就在本院做過 X 光檢查，並檢查出有髖關節發育不良及椎間盤硬化，100 年 11 月時也同時發生過後肢腸股動脈血栓(Arterial Thromboembolism)的狀況。

臨床症狀

檢查後發現雙側皆無本體反射，深層痛覺反應變弱，後肢脈搏穩定。後肢癱瘓，已經不能站立，本體感覺喪失，只有左側後肢還有輕微痛覺反應。觸診可明顯感覺出膀胱腫脹。後肢完全失去自主運動的能力。肌肉的張力減少。手推車試驗(Wheel barrowing test)及滑落試驗(Reflex stepping slide test)皆無反應，瞳孔反射正常。

影像學檢查

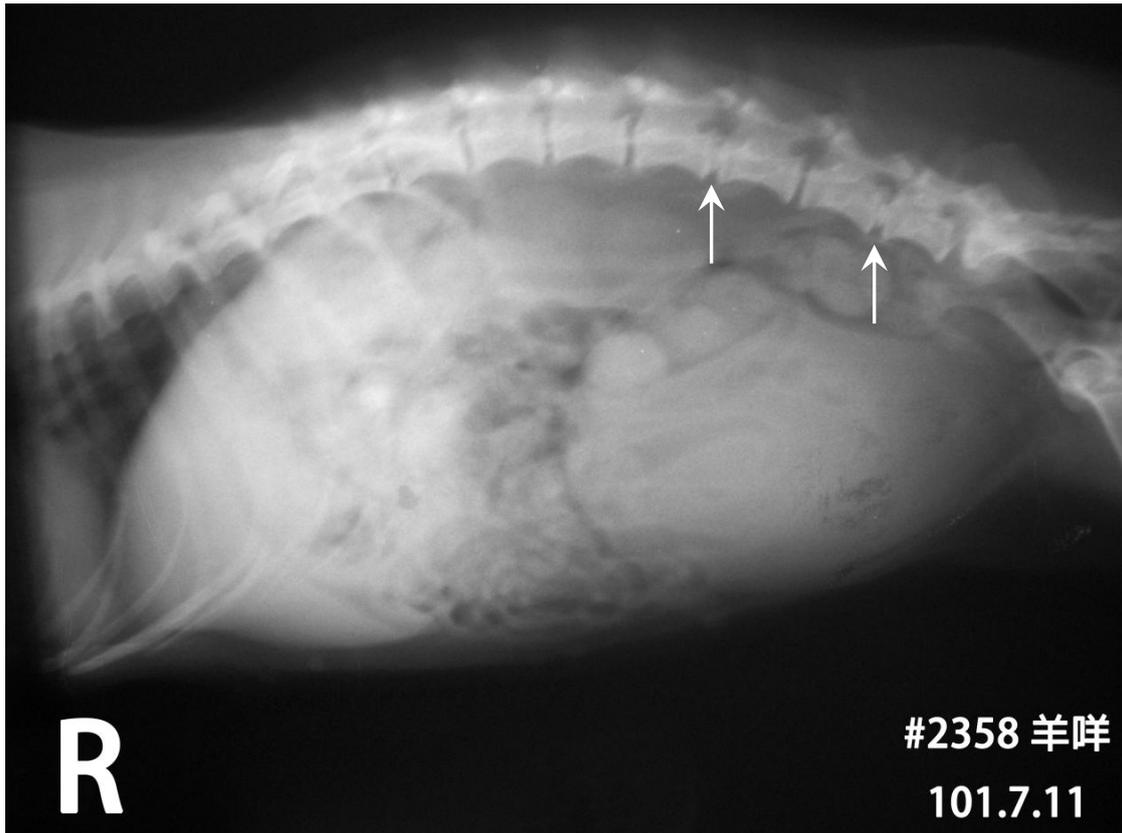
從 X 光片中可明顯看出椎間盤的硬化。



101年6月8日拍攝的X光片，此為側照，箭號處可見明顯椎間盤硬化。



101年6月8日拍攝的X光片，此為腹背照。



101年7月11日拍攝的X光片，此為側照，箭號處可見明顯椎間盤硬化。



101年7月11日拍攝的X光片，此為腹背照，箭號處可見明顯椎間盤硬化。

血液生化學檢查

血液檢查方面無明顯異常。

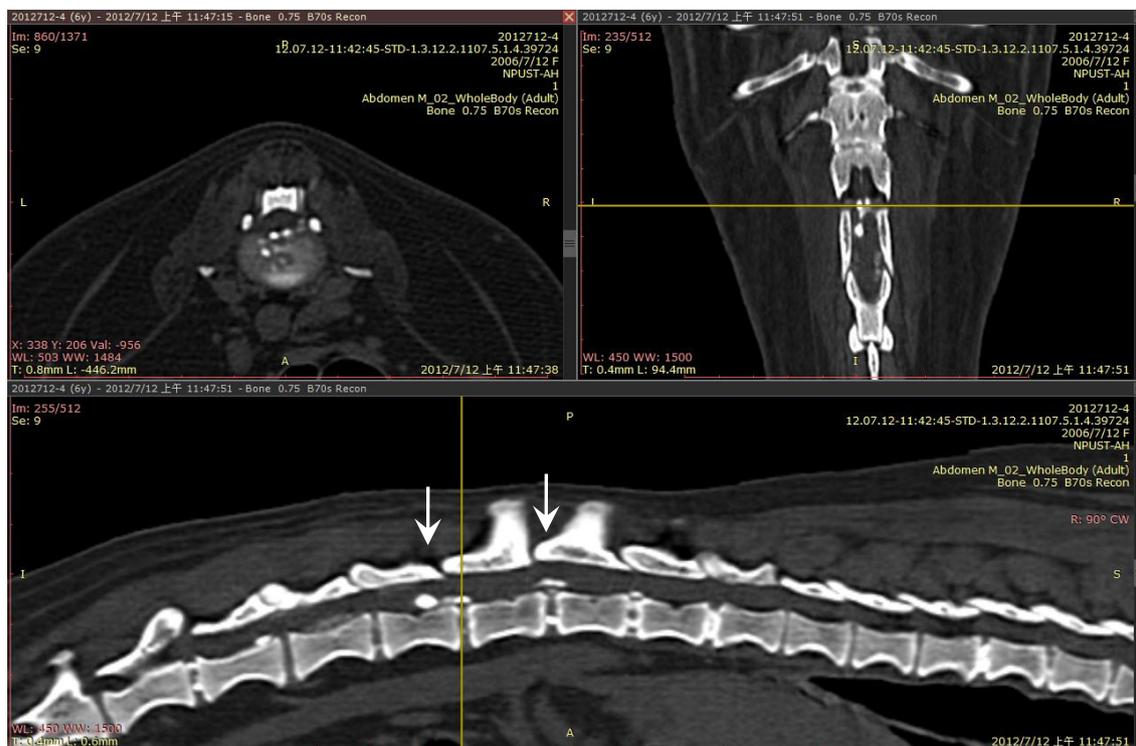
項目	數值	單位	正常範圍
RBC	9.59	10 ⁶ mm	5.5~8.5
MCV	62.8	um	60~72
HCT	60.2	%	37~55
PLT	388	10 ³ mm	200~500
MPV	8.1	Um	6.1~10.1
WBC	17.4	10 ³ mm	6~17
HGB	22.9	g/dl	12~18
MCH	23.9	Pg	19.5~24.5
MCHC	38.1	g/dl	32~38
血清生化			
BUN	14	Mg/dl	
Glu	69	Mg/dl	
Alp	Under	<0	
T-Pro	4.7	g/dl	
GPT	15	IU/L	
Cre	0.7	Mg/dl	
CPK	Under	<0	
GOT	0	IU/L	
Alb	2.6	g/dl	

正常值參考值由 IDExx 提供

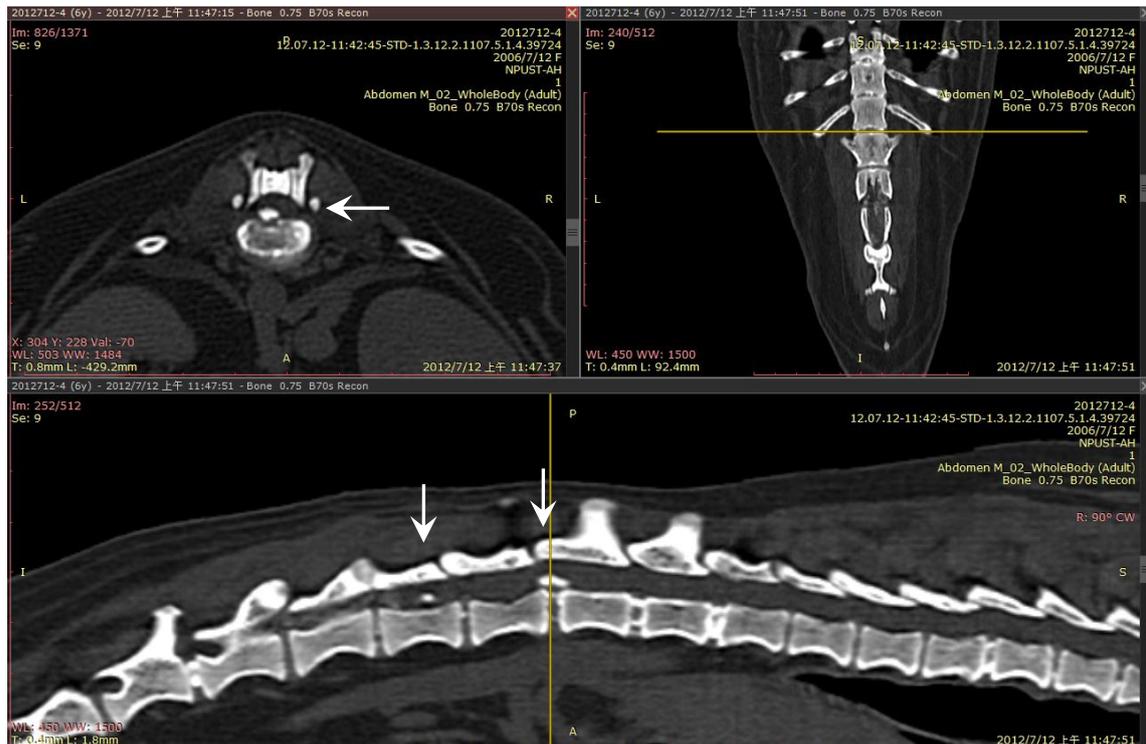
IDExx 4Dx 已於 101 年 3 月 19 日檢測過，其結果為陰性。

初步診斷

犬椎間盤疾病。電腦斷層檢查結果中可看見明顯的病兆，脊椎有多處的椎間盤突出以及椎間盤硬化。



101年7月13日拍攝的電腦斷層，箭號處可見明顯椎間盤硬化。



101年7月13日拍攝的電腦斷層，箭號處可見明顯椎間盤硬化。

椎間盤突出通常可以分成五級：

第一級：出現背部疼痛的現象，犬隻可能出現走路緩慢、產生抖動的現象、不願意跑跳，通常主人會再碰觸到病犬背部時發現犬隻有疼痛反應。

第二級：犬隻出現背痛，依然可以行走，但後肢有時會不穩，出現體位反應異常(Proprioception)。

第三級：患犬無法走路同時有背部疼痛的狀況，依然可以控制後肢及搖尾巴。

第四級：患犬有背部疼痛及無法移動後肢的狀況，大小便失禁，依然有痛覺反應。

第五級：最嚴重的狀況，患犬對於後肢及尾部沒有知覺。

本病歷患犬於分級中第四級。

臨床初步治療

本病例一開始已經在其他動物醫院使用廣效性抗生素及消炎止痛藥治療，然臨床上治療較果並無改善，在轉來本院後和畜主討論過後決定採用幹細胞治療法來作治療。

治療

治療主要分成兩個階段，第一階段為幹細胞注射治療，第二階段為之後的復健治療。幹細胞一可以經由採取骨髓組織或是脂肪組織分離得到，本病歷為採取骨髓組織，輕微麻醉的狀態下，從後肢股骨採取 7 毫升的骨髓液，直接冷藏送到昕祈生醫科技公司(骨髓液分析結果共有 2.3 億個骨髓細胞)，由昕祈生醫將收到的骨髓單核細胞加以存化培養後，將 1.1 億的骨髓單核細胞 (Bone marrow mononuclear cell) 低溫宅配到醫院。

將骨髓單核細胞直接由靜脈注射回病犬體內，注射骨髓單核細胞時必須先將細胞回溫到室內常溫，並輕微的搖晃避免細胞殘留於運送回來的針筒表面，利用無菌注射用生理食鹽水稀釋一倍以後，才能將細胞打入病犬體內，注射時也必須分多次緩慢地打入。要求主人將病犬限制運動，並給予軟墊於休息處以避免褥瘡。

骨髓單核細胞注射後七日，請主人帶病犬回診，骨髓採樣處傷口恢復狀況良好，病犬後肢還是無痛覺反射，後肢完全無法站立，排尿的狀況沒有明顯改善。14 日後注射骨髓間質幹細胞，治療後病犬的排尿狀況出現改善。隔七日後注射第二次骨髓間質幹細胞，病犬的狀況開始較為進步，排尿狀況出現自我控制，積尿的程度減少很多，右後肢出現疼痛反射。再七日後注射第三次骨髓間質幹細胞，排尿狀況正常，後肢有明顯的痛覺反射，稍微可以支撐重量。在全階段的幹細胞治療後，病犬持續進行復健，在 7-8 周後開始可以站立，目前已恢復行走及跑步的能力。

討論

椎間盤退化一開始通常由於組織型態的改變，產生免疫前細胞激素(Proinflammatory cytokines)像是 Interleukin 1 (IL-1)、增加 Matrix metalloproteinases (MMPs) (像是 MMP-2, MMP-9 及 MMP-13) 及 aggrecanases。這些細胞激素會降解基質，破壞椎間盤內的水和性 Glycosaminoglycans (GAG)，進而造成基質碎片(如 fibronectin)結合到椎間盤細胞表面造成鈣化反應(catabolic responses)。以上這些生化的反應會造成椎間盤的滲透壓下降及喪失水分[4]。

犬椎間盤疾病在臘腸犬來說是較為好發的，發生比率約為 19-24%。為其他犬種的 10 到 12 倍，好發於 3 到 8 歲。椎間盤脫出常見於頸椎及胸腰椎，初期會有背部疼痛、不願行走及發抖等症狀，後期會有明顯的拱背、後肢無力、共計失調及後肢癱瘓。椎間盤突出可分成五級依據其臨床症狀，第一級偶爾出現背痛，第二級會開始出現共計失調，第三級開始無法行走，第四期開始無法自行排泄，第五期時會失去深層痛覺。本病例病犬已到達第四期[1, 3]。

椎間盤突出的治療通常會依據其分級來決定治療方式，主要有保守療法及手術治療。保守療法通常會給予消炎止痛藥並限制運動，減少更多的椎間盤物質壓迫脊髓，通常只對於症狀輕微的病畜有幫助，但並不會解決椎間盤突出的問題，所以常常會有復發的可能，如果保守療法治療時，依然會有疼痛的狀況或是病情的加重，就必須考慮使用手術治療，早期手術恢復行走的機率較高，晚期來說成功的機率較低及風險性也會較高[1, 3]。但是手術需要承擔的風險也較多，像是出血、顯影劑過敏及醫源性的脊髓傷害[1, 3]。

幹細胞主要會受到大家的研究是因為有很好的效用，幹細胞本身能夠分化成多種的功能性細胞，並有能力去移行的不同的組織內，同時還有其他的作用機制，像是附分泌作用(Paracrine effects)、細胞間作用(Cell-cell interactions)。文獻中指出，在退行性的椎間盤中，幹細胞可以幫助椎間盤細胞代謝及產生更多的細胞外間質(Extracellular matrix)，在臨床試驗中可發現間質幹細胞可以成功的移行到椎間盤組織[2]。

幹細胞療法使原本體內不會再生的組織及功能可以恢復的醫學方法，幹細胞治療採取病畜的細胞培養後用於治療，就可以使自體排斥的機率減少，現在細胞培養的技術不同以往，已能由少量細胞，培養成為特定的細胞，進而修復受傷的組織。目前幹細胞治療在獸醫

來說，較常被利用的有骨髓幹細胞(Bone marrow stem cell, MSC)與脂肪幹細胞(Adipose derived stem cell, ADSC)，其中相對於骨髓組織的採取，脂肪組織在採取方便性來說較高，因為只需要一般的小手術就可以取得，在器材及技術的門檻上來說比起採取骨髓來說的都相對的低很多[5]。在人醫的醫美應用方面，由於有抽取脂肪的手術，所以相對而言是很容易可以取得大量的組織，像是在香港就有開始在使用於糖尿病潰瘍及醫美，更還有用在治療糖尿病、心臟病及腎臟病上；在英國有用來治療因為意外或疾病受損的視力。

幹細胞治療主要來說是具有兩個主要的方式，一為免疫調控，二為細胞分化的能力。免疫調控機制可以去調控 CD4、CD8、T 細胞、自然殺手細胞、B 細胞等細胞，所以可以用來作為疾病發炎、感染控制、關節炎、脊椎損傷等。細胞分化能力方面是由於，骨髓幹細胞及脂肪幹細胞可以分化形成軟骨、硬骨及脂肪細胞，在體外分化的結果有較多的文獻，體內分化的狀況通常可以藉由病畜的臨床狀況來評估。對於關節炎來說，因為關節炎是嚴重的發炎反應，因此幹細胞治療的免疫調控機制就有很大的幫助，幹細胞可以移行到肌肉及骨骼系統，使受傷組織的細胞可以修復，以及可以促進關節囊液分泌[4, 5]。幹細胞治療是一種很新的治療方式，現在有許多的研究正是針對幹細胞治療，台灣近年來更多了幾座新的再生醫學中心，在目前醫學中有能有一個新增的工具來幫助寵物對抗疾病。

幹細胞針對椎間盤疾病產生治療效果是由於，間葉幹細胞(MSCs)能夠使椎間盤組織產生介質(如膠原纖維 II 及 Proteoglycan)，而且是不論自體幹細胞、同種異體幹細胞及異種異體幹細胞都可以有效果。幹細胞治療會依照病情的狀況約需要一個月到四個月才能產生明顯的效果[5]。能夠了解幹細胞對椎間盤疾病的幫助機制，主要是由於從 1998 年就開始有國外的學者針對椎間盤疾病以幹細胞來治療做研究，所以現在才能夠比較瞭解這些複雜的機制[5]。在病情未嚴重時開始治療，可以有較良好的效果，也是治療成功與否的分界點[5]。

參考文獻

1. Theresa WF. Neurosurgery. In : Small animal surgery, 3rd Ed, Mosby Elsevier, 1357-1523, 2007.
2. Satoshi S, Gianluca V. Feasibility of a stem cell therapy for intervertebral disc degeneration. The Spine Journal Volume 8, Issue 6 : 888–896, 2008.
3. Simon R. Platt. Neurosurgery. In : Small Animal Neurology, Schlutersche, German, 199-214, 2010.
4. Lotz JC, Haughton V. New treatments and imaging strategies in degenerative disease of the intervertebral disks. Radiology, Jul 264(1) : 6-19, 2012.
5. Drazin D, Rosner J. Stem cell therapy for degenerative disc disease. Adv Orthop : 961052, 2012.
6. Daisuke Sakai. Future perspectives of cell-based therapy for intervertebral disc disease. Eur Spine J 17 : S452–S458, 2008.
7. Frymoyer JW, Cats-Baril WL. An overview of the incidence and costs of low back pain. Orthop Clin North Am 22:263–271, 1991.